

**DER EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER KONZENTRATIONEN
VON CEFTIZOXIM AUF DIE PHAGOZYTOSE VON
GONOKOKKEN DURCH POLYMORPHKERNIGE
GRANULOCYTEN IN VITRO**

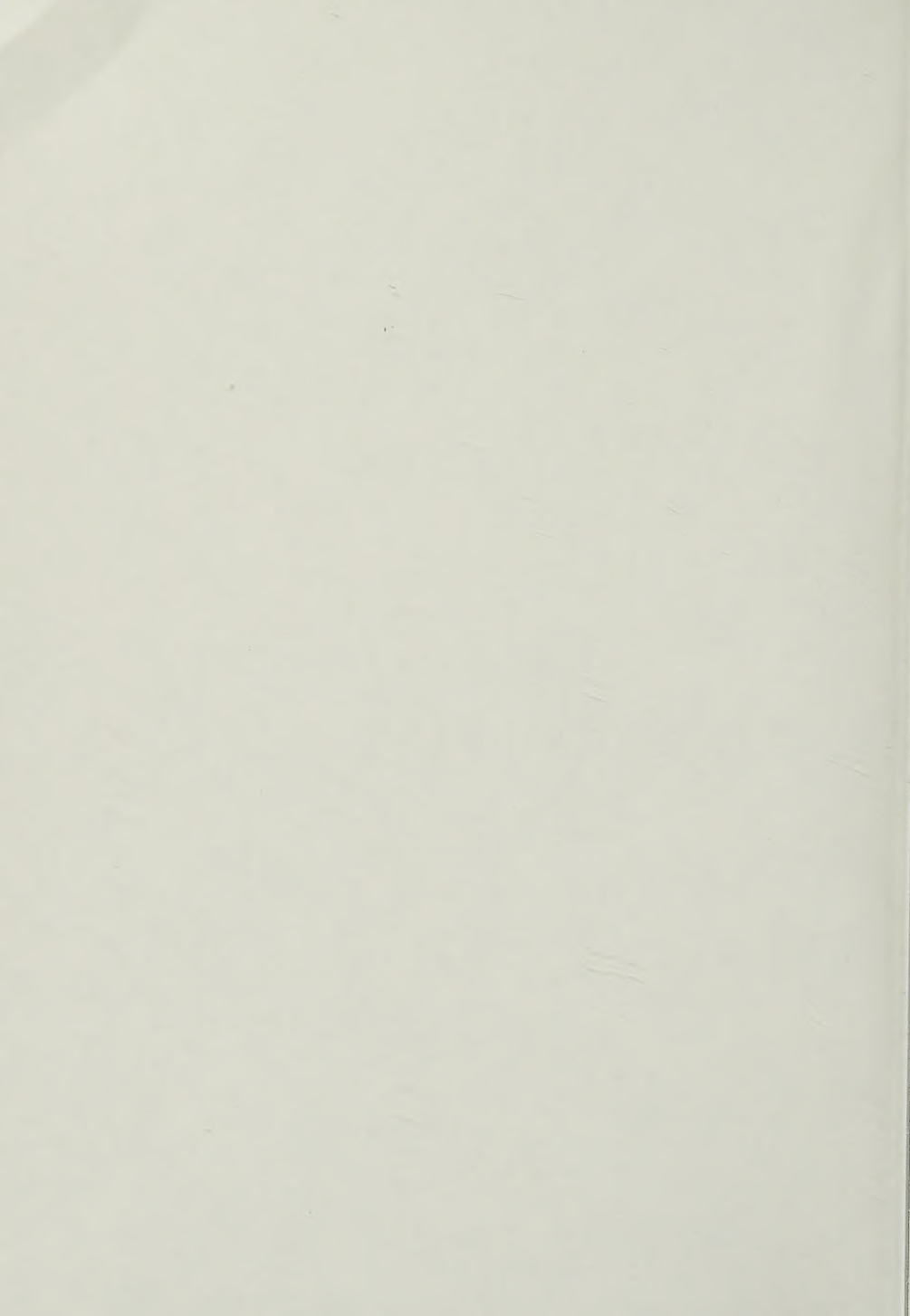
WILFRIED KRELLER

1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554622_0007



Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Universität München

Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. O. Braun-Falco

DER EINFLUSS UNTERSCHIEDLICHER KONZENTRATIONEN VON
CEFTIZOXIM AUF DIE PHAGOZYTÖSE VON GONOKOKKEN DURCH
POLYMORPHKERNIGE GRANULOZYTEN IN VITRO

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilfried Kreller

aus

Karlshuld

Jahr

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.Dr.h.c. O. Braun-Falco

1.Prof. Dr. G. Ruckdeschel

Mitberichterstatter: 2.Prof. Dr. H. Ehrhart

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr.med. H.C. Korting

Dekan: Prof.Dr.med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.1986

1. Vorwort	1
2. Inhalt des Buches	2
3. Bedeutung der Untersuchung	3
4. Darstellung der Untersuchungsfrage	4
5. Darstellung der Ergebnisse und Diskussion	5
6. Zusammenfassung	6
7. Literaturverzeichnis	7
8. Anhang	8
9. Bibliographie	9
10. Glossar	10
11. Index	11
12. Nachwort	12
13. Danksagung	13
14. Impressum	14
15. Druckfehlerverzeichnis	15
16. Nachtrag	16
17. Schlusswort	17
18. Literaturverzeichnis	18
19. Anhang	19
20. Bibliographie	20
21. Glossar	21
22. Index	22
23. Nachwort	23
24. Danksagung	24
25. Impressum	25
26. Druckfehlerverzeichnis	26
27. Nachtrag	27
28. Schlusswort	28
29. Literaturverzeichnis	29
30. Anhang	30
31. Bibliographie	31
32. Glossar	32
33. Index	33
34. Nachwort	34
35. Danksagung	35
36. Impressum	36
37. Druckfehlerverzeichnis	37
38. Nachtrag	38
39. Schlusswort	39
40. Literaturverzeichnis	40
41. Anhang	41
42. Bibliographie	42
43. Glossar	43
44. Index	44
45. Nachwort	45
46. Danksagung	46
47. Impressum	47
48. Druckfehlerverzeichnis	48
49. Nachtrag	49
50. Schlusswort	50
51. Literaturverzeichnis	51
52. Anhang	52
53. Bibliographie	53
54. Glossar	54
55. Index	55
56. Nachwort	56
57. Danksagung	57
58. Impressum	58
59. Druckfehlerverzeichnis	59
60. Nachtrag	60
61. Schlusswort	61
62. Literaturverzeichnis	62
63. Anhang	63
64. Bibliographie	64
65. Glossar	65
66. Index	66
67. Nachwort	67
68. Danksagung	68
69. Impressum	69
70. Druckfehlerverzeichnis	70
71. Nachtrag	71
72. Schlusswort	72
73. Literaturverzeichnis	73
74. Anhang	74
75. Bibliographie	75
76. Glossar	76
77. Index	77
78. Nachwort	78
79. Danksagung	79
80. Impressum	80
81. Druckfehlerverzeichnis	81
82. Nachtrag	82
83. Schlusswort	83
84. Literaturverzeichnis	84
85. Anhang	85
86. Bibliographie	86
87. Glossar	87
88. Index	88
89. Nachwort	89
90. Danksagung	90
91. Impressum	91
92. Druckfehlerverzeichnis	92
93. Nachtrag	93
94. Schlusswort	94
95. Literaturverzeichnis	95
96. Anhang	96
97. Bibliographie	97
98. Glossar	98
99. Index	99
100. Nachwort	100
101. Danksagung	101
102. Impressum	102
103. Druckfehlerverzeichnis	103
104. Nachtrag	104
105. Schlusswort	105
106. Literaturverzeichnis	106
107. Anhang	107
108. Bibliographie	108
109. Glossar	109
110. Index	110
111. Nachwort	111
112. Danksagung	112
113. Impressum	113
114. Druckfehlerverzeichnis	114
115. Nachtrag	115
116. Schlusswort	116
117. Literaturverzeichnis	117
118. Anhang	118
119. Bibliographie	119
120. Glossar	120
121. Index	121
122. Nachwort	122
123. Danksagung	123
124. Impressum	124
125. Druckfehlerverzeichnis	125
126. Nachtrag	126
127. Schlusswort	127
128. Literaturverzeichnis	128
129. Anhang	129
130. Bibliographie	130
131. Glossar	131
132. Index	132
133. Nachwort	133
134. Danksagung	134
135. Impressum	135
136. Druckfehlerverzeichnis	136
137. Nachtrag	137
138. Schlusswort	138
139. Literaturverzeichnis	139
140. Anhang	140
141. Bibliographie	141
142. Glossar	142
143. Index	143
144. Nachwort	144
145. Danksagung	145
146. Impressum	146
147. Druckfehlerverzeichnis	147
148. Nachtrag	148
149. Schlusswort	149
150. Literaturverzeichnis	150
151. Anhang	151
152. Bibliographie	152
153. Glossar	153
154. Index	154
155. Nachwort	155
156. Danksagung	156
157. Impressum	157
158. Druckfehlerverzeichnis	158
159. Nachtrag	159
160. Schlusswort	160
161. Literaturverzeichnis	161
162. Anhang	162
163. Bibliographie	163
164. Glossar	164
165. Index	165
166. Nachwort	166
167. Danksagung	167
168. Impressum	168
169. Druckfehlerverzeichnis	169
170. Nachtrag	170
171. Schlusswort	171
172. Literaturverzeichnis	172
173. Anhang	173
174. Bibliographie	174
175. Glossar	175
176. Index	176
177. Nachwort	177
178. Danksagung	178
179. Impressum	179
180. Druckfehlerverzeichnis	180
181. Nachtrag	181
182. Schlusswort	182
183. Literaturverzeichnis	183
184. Anhang	184
185. Bibliographie	185
186. Glossar	186
187. Index	187
188. Nachwort	188
189. Danksagung	189
190. Impressum	190
191. Druckfehlerverzeichnis	191
192. Nachtrag	192
193. Schlusswort	193
194. Literaturverzeichnis	194
195. Anhang	195
196. Bibliographie	196
197. Glossar	197
198. Index	198
199. Nachwort	199
200. Danksagung	200
201. Impressum	201
202. Druckfehlerverzeichnis	202
203. Nachtrag	203
204. Schlusswort	204
205. Literaturverzeichnis	205
206. Anhang	206
207. Bibliographie	207
208. Glossar	208
209. Index	209
210. Nachwort	210
211. Danksagung	211
212. Impressum	212
213. Druckfehlerverzeichnis	213
214. Nachtrag	214
215. Schlusswort	215
216. Literaturverzeichnis	216
217. Anhang	217
218. Bibliographie	218
219. Glossar	219
220. Index	220
221. Nachwort	221
222. Danksagung	222
223. Impressum	223
224. Druckfehlerverzeichnis	224
225. Nachtrag	225
226. Schlusswort	226
227. Literaturverzeichnis	227
228. Anhang	228
229. Bibliographie	229
230. Glossar	230
231. Index	231
232. Nachwort	232
233. Danksagung	233
234. Impressum	234
235. Druckfehlerverzeichnis	235
236. Nachtrag	236
237. Schlusswort	237
238. Literaturverzeichnis	238
239. Anhang	239
240. Bibliographie	240
241. Glossar	241
242. Index	242
243. Nachwort	243
244. Danksagung	244
245. Impressum	245
246. Druckfehlerverzeichnis	246
247. Nachtrag	247
248. Schlusswort	248
249. Literaturverzeichnis	249
250. Anhang	250
251. Bibliographie	251
252. Glossar	252
253. Index	253
254. Nachwort	254
255. Danksagung	255
256. Impressum	256
257. Druckfehlerverzeichnis	257
258. Nachtrag	258
259. Schlusswort	259
260. Literaturverzeichnis	260
261. Anhang	261
262. Bibliographie	262
263. Glossar	263
264. Index	264
265. Nachwort	265
266. Danksagung	266
267. Impressum	267
268. Druckfehlerverzeichnis	268
269. Nachtrag	269
270. Schlusswort	270
271. Literaturverzeichnis	271
272. Anhang	272
273. Bibliographie	273
274. Glossar	274
275. Index	275
276. Nachwort	276
277. Danksagung	277
278. Impressum	278
279. Druckfehlerverzeichnis	279
280. Nachtrag	280
281. Schlusswort	281
282. Literaturverzeichnis	282
283. Anhang	283
284. Bibliographie	284
285. Glossar	285
286. Index	286
287. Nachwort	287
288. Danksagung	288
289. Impressum	289
290. Druckfehlerverzeichnis	290
291. Nachtrag	291
292. Schlusswort	292
293. Literaturverzeichnis	293
294. Anhang	294
295. Bibliographie	295
296. Glossar	296
297. Index	297
298. Nachwort	298
299. Danksagung	299
300. Impressum	300
301. Druckfehlerverzeichnis	301
302. Nachtrag	302
303. Schlusswort	303
304. Literaturverzeichnis	304
305. Anhang	305
306. Bibliographie	306
307. Glossar	307
308. Index	308
309. Nachwort	309
310. Danksagung	310
311. Impressum	311
312. Druckfehlerverzeichnis	312
313. Nachtrag	313
314. Schlusswort	314
315. Literaturverzeichnis	315
316. Anhang	316
317. Bibliographie	317
318. Glossar	318
319. Index	319
320. Nachwort	320
321. Danksagung	321
322. Impressum	322
323. Druckfehlerverzeichnis	323
324. Nachtrag	324
325. Schlusswort	325
326. Literaturverzeichnis	326
327. Anhang	327
328. Bibliographie	328
329. Glossar	329
330. Index	330
331. Nachwort	331
332. Danksagung	332
333. Impressum	333
334. Druckfehlerverzeichnis	334
335. Nachtrag	335
336. Schlusswort	336
337. Literaturverzeichnis	337
338. Anhang	338
339. Bibliographie	339
340. Glossar	340
341. Index	341
342. Nachwort	342
343. Danksagung	343
344. Impressum	344
345. Druckfehlerverzeichnis	345
346. Nachtrag	346
347. Schlusswort	347
348. Literaturverzeichnis	348
349. Anhang	349
350. Bibliographie	350
351. Glossar	351
352. Index	352
353. Nachwort	353
354. Danksagung	354
355. Impressum	355
356. Druckfehlerverzeichnis	356
357. Nachtrag	357
358. Schlusswort	358
359. Literaturverzeichnis	359
360. Anhang	360
361. Bibliographie	361
362. Glossar	362
363. Index	363
364. Nachwort	364
365. Danksagung	365
366. Impressum	366
367. Druckfehlerverzeichnis	367
368. Nachtrag	368
369. Schlusswort	369
370. Literaturverzeichnis	370
371. Anhang	371
372. Bibliographie	372
373. Glossar	373
374. Index	374
375. Nachwort	375
376. Danksagung	376
377. Impressum	377
378. Druckfehlerverzeichnis	378
379. Nachtrag	379
380. Schlusswort	380
381. Literaturverzeichnis	381
382. Anhang	382
383. Bibliographie	383
384. Glossar	384
385. Index	385
386. Nachwort	386
387. Danksagung	387
388. Impressum	388
389. Druckfehlerverzeichnis	389
390. Nachtrag	390
391. Schlusswort	391
392. Literaturverzeichnis	392
393. Anhang	393
394. Bibliographie	394
395. Glossar	395
396. Index	396
397. Nachwort	397
398. Danksagung	398
399. Impressum	399
400. Druckfehlerverzeichnis	400
401. Nachtrag	401
402. Schlusswort	402
403. Literaturverzeichnis	403
404. Anhang	404
405. Bibliographie	405
406. Glossar	406
407. Index	407
408. Nachwort	408
409. Danksagung	409
410. Impressum	410
411. Druckfehlerverzeichnis	411
412. Nachtrag	412
413. Schlusswort	413
414. Literaturverzeichnis	414
415. Anhang	415
416. Bibliographie	416
417. Glossar	417
418. Index	418
419. Nachwort	419
420. Danksagung	420
421. Impressum	421
422. Druckfehlerverzeichnis	422
423. Nachtrag	423
424. Schlusswort	424
425. Literaturverzeichnis	425
426. Anhang	426
427. Bibliographie	427
428. Glossar	428
429. Index	429
430. Nachwort	430
431. Danksagung	431
432. Impressum	432
433. Druckfehlerverzeichnis	433
434. Nachtrag	434
435. Schlusswort	435
436. Literaturverzeichnis	436
437. Anhang	437
438. Bibliographie	438
439. Glossar	439
440. Index	440
441. Nachwort	441
442. Danksagung	442
443. Impressum	443
444. Druckfehlerverzeichnis	444
445. Nachtrag	445
446. Schlusswort	446
447. Literaturverzeichnis	447
448. Anhang	448
449. Bibliographie	449
450. Glossar	450
451. Index	451
452. Nachwort	452
453. Danksagung	453
454. Impressum	454
455. Druckfehlerverzeichnis	455
456. Nachtrag	456
457. Schlusswort	457
458. Literaturverzeichnis	458
459. Anhang	459
460. Bibliographie	460
461. Glossar	461
462. Index	462
463. Nachwort	463
464. Danksagung	464
465. Impressum	465
466. Druckfehlerverzeichnis	466
467. Nachtrag	467
468. Schlusswort	468
469. Literaturverzeichnis	469
470. Anhang	470
471. Bibliographie	471
472. Glossar	472
473. Index	473
474. Nachwort	474
475. Danksagung	475
476. Impressum	476
477. Druckfehlerverzeichnis	477
478. Nachtrag	478
479. Schlusswort	479
480. Literaturverzeichnis	480
481. Anhang	481
482. Bibliographie	482
483. Glossar	483
484. Index	484
485. Nachwort	485
486. Danksagung	486
487. Impressum	487
488. Druckfehlerverzeichnis	488
489. Nachtrag	489
490. Schlusswort	490
491. Literaturverzeichnis	491
492. Anhang	492
493. Bibliographie	493
494. Glossar	494
495. Index	495
496. Nachwort	496
497. Danksagung	497
498. Impressum	498
499. Druckfehlerverzeichnis	499
500. Nachtrag	500
501. Schlusswort	501
502. Literaturverzeichnis	502
503. Anhang	503
504. Bibliographie	504
505. Glossar	505
506. Index	506
507. Nachwort	507
508. Danksagung	508
509. Impressum	509
510. Druckfehlerverzeichnis	510
511. Nachtrag	511
512. Schlusswort	512
513. Literaturverzeichnis	513
514. Anhang	514
515. Bibliographie	515
516. Glossar	516
517. Index	517
518. Nachwort	518
519. Danksagung	519
520. Impressum	520
521. Druckfehlerverzeichnis	521
522. Nachtrag	522
523. Schlusswort	523
524. Literaturverzeichnis	524
525. Anhang	525
526. Bibliographie	526
527. Glossar	527
528. Index	528
529. Nachwort	529
530. Danksagung	530
531. Impressum	531
532. Druckfehlerverzeichnis	532
533. Nachtrag	533
534. Schlusswort	534
535. Literaturverzeichnis	535
536. Anhang	536
537. Bibliographie	537
538. Glossar	538
539. Index	539
540. Nachwort	540
541. Danksagung	541
542. Impressum	542
543. Druckfehlerverzeichnis	



INHALTSVERZEICHNIS

SEITE

1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	2
2.1.	Herstellung der Kochblutplatten	2
2.2.	Herstellung der Bakteriensuspension	2
2.3.	Herstellung der Suspension polymorphkerniger Granulozyten	3
2.4.	Herstellung der Antibiotikallösungen	5
2.5.	Exposition der Bakteriensuspensionen gegenüber Antibiotikallösung und Granulozytensuspension	6
2.6.	Lichtoptische Auswertung	8
2.7.	Elektronenmikroskopische Beurteilung	8
3.	Ergebnisse	10
3.1.	Ergebnisse des Kontrollansatzes	10
3.2.	Ergebnisse in Gegenwart von $1/4$ der minimalen Hemmkonzentration von Ceftizoxim	14
3.3.	Ergebnisse in Gegenwart des 4000fachen der minimalen Hemmkonzentration von Ceftizoxim	16
3.4.	Elektronenmikroskopische Ergebnisse	19
4.	Diskussion	21
5.	Zusammenfassung	25
6.	Verzeichnis der Abbildungen	27
7.	Verzeichnis der Tabellen	29
8.	Literaturverzeichnis	30

1.	Einleitung	1
2.	Die Bedeutung der Arbeit	2
3.	Die Bedeutung der Arbeit für den Einzelnen	3
4.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gesellschaft	4
5.	Die Bedeutung der Arbeit für die Nation	5
6.	Die Bedeutung der Arbeit für die Welt	6
7.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	7
8.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	8
9.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	9
10.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	10
11.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	11
12.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	12
13.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	13
14.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	14
15.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	15
16.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	16
17.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	17
18.	Die Bedeutung der Arbeit für die Vergangenheit	18
19.	Die Bedeutung der Arbeit für die Zukunft	19
20.	Die Bedeutung der Arbeit für die Gegenwart	20

1. Einleitung

Es scheint, daß in Ausnahmefällen die Gonorrhoe beim Menschen auch spontan ohne medikamentöse Behandlung ausheilen kann (Burckhardt, 1964). Trotzdem muß die Chemotherapie in der Regel als essentiell angesehen werden, um eine völlige Heilung zu erzielen. Dabei ist die vollständige Abtötung der Bakterien im Körper des Erkrankten nicht allein auf die Wirkung der Antibiotika zurückzuführen, wie man durch die Erfahrungen mit Patienten mit geschwächter Immunabwehr weiß (Milatovic und Braveny, 1982).

Vielmehr ist die Wirksamkeit des körpereigenen Phagozytosesystems ein weiterer unabdingbarer Faktor zur Bekämpfung einer bakteriellen Infektionskrankheit (Björkstén u. a., 1977; Melby und Midtvedt, 1980; McDonald u. a., 1981).

Tatsächlich können vor allem Granulozyten die bakterio-
statische bzw. bakterizide Wirkung der Antibiotika um
ein Vielfaches steigern (van der Voet u. a., 1984).
Und das gilt sowohl für bakterielle Infektionen im all-
gemeinen als auch für die Gonorrhoe im besonderen (Ovcin-
nikov u. a., 1974; Ovcinnikov und Delektorskij, 1977).
Bevor nun Cefprozid, ein neues Cephalosporin, in
großem Umfange in der Therapie der Gonorrhoe einge-
setzt werden kann, sollten unter anderem doch Kenntnisse
darüber vorliegen, wie durch dieses neue Antibiotikum
die Phagozytose der Gonokokken durch polymorphkernige
Granulozyten beeinflußt wird. Die Untersuchung dieser
Frage soll Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

2. Material und Methoden

2.1. Herstellung der Kochblutplatten

Zur Herstellung der Kochblutplatten braucht man 41 g Columbia-Agar (Biologische Arbeitsgemeinschaft, Lich, D) auf 1 l Aqua dest. und versetzte dies mit einem Tropfen einer Silikon-Antischaumemulsion (Serva, Heidelberg, D). Diese Lösung wurde 30' bei 120 ° C autoklaviert. Im noch heißen Zustand der Lösung (mind. 80 ° C) wurde 10 % Hammelblut (defibriniert) eingerührt und gut vermischt. Anschließend wurde das Gemisch unter sterilen Bedingungen mit Hilfe eines Petrimaten (Struers, Dänemark) in Petrischalen gegeben, die nach Abkühlung bis zu ihrem Gebrauch im Kühlschrank gelagert wurden (maximal zwei Wochen).

2.2. Herstellung der Bakteriensuspension

Als Reaktionsmedium wurde sterile Hanks-Pufferlösung (Serva, Heidelberg, D) verwendet.

Zur Durchführung der Versuche wurden zwei eingefrorene Stämme von *Neisseria gonorrhoea* (9693/83 und 4947/83) herangezogen, die erst vor kurzem in der Dermatologischen Universitätsklinik, München, isoliert worden waren. Der Stamm 9693/83 ist vom Auxo-Typ I und prolinunempfindlich, während der Stamm 4947/83 vom Auxo-Typ II und prolinempfindlich ist.

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) von Ceftizoxim bei diesen Stämmen beträgt 0,004 bzw. 0,001 µg/ml (Korting und Abeck, 1984).

Es wurde von beiden Stämmen je eine Einzelkolonie auf

Kochblutplatten isoliert und weiter vermehrt. Die Bebrütung erfolgte 24 h in einem Brutschrank der Fa. Heraeus, Hanau, D, bei 37°C und 5 % CO_2 -Begasung. Während der Versuche wurden täglich neue Subkulturen angelegt, so daß immer neue Gonokokken mit 24stündiger Bebrütungszeit zur Verwendung gelangten. Die Bakterien wurden mit Hilfe einer Platinöse von der Platte abgeerntet, in vorgewärmte Hanks-Pufferlösung resuspendiert und kräftig mit einem Mixer (Cenco Instrumenten b. v., Breda, NL) geschüttelt, um Verklumpungen der Gonokokken weitgehend auszuschalten. Die Bakteriendichte wurde in einem Photometer (Bausch & Lomb, Rochester, USA) auf einen Extinktionswert von 0,15 bei 500 nm justiert. In Vorversuchen war mit Hilfe einer Verdünnungsreihe und durch Ausplattieren eine Keimzahl von 5×10^6 bis 2×10^7 Gonokokken pro ml bei dieser Suspensionsstärke bestimmt worden. Die Auszählung erfolgte nach 48stündiger Bebrütung bei 37°C und 5 % CO_2 -Begasung. Die Reinheit der Gonokokkenkultur wurde laufend durch den Cytochromperoxidase-Nachweis und mittels nach Gram gefärbten Ausstrichpräparaten sichergestellt.

2.3. Herstellung der Suspension polymorphkerniger Granulozyten

An jedem Versuchstag wurden 40 ml frisches heparinisiertes (10 U/ml) Blut von freiwilligen, gesunden, männlichen Spendern gewonnen, die lt. Anamnese noch nie an Gonorrhoe erkrankt waren.

Das heparinisierte Blut wurde 15' bei 150 g und Zimmertemperatur zentrifugiert (Hettich, Tuttlingen, D). Daraufhin verwarf man das plättchenreiche Plasma bis auf ca. 0,5 cm Überstand mit einer Einweg-Plastikpipette.

Die zellreiche Suspension wurde gesammelt und mit physiologischer NaCl-Lösung auf mindestens 40 ml Volumen aufgeschwemmt.

In zehn Kunststoffröhrchen pipettierte man zuerst je 4 ml 55%ige Percollösung (Pharmacia, Uppsala, Schweden). Mit einer Einmalspritze wurde diese vorsichtig mit 74%iger Percollösung unterschichtet, um eine Mischung der beiden Phasen zu verhindern.

Nun überschichtete man diese Percollösungen mit je 4 ml zellreicher Suspension (s. o.) und zentrifugierte den Ansatz 20' bei 400 g und 14 ° C. Nach dem Zentrifugieren erhielt man die verschiedenen Zelltypen getrennt aufgrund der unterschiedlichen Gewichtsgradienten.

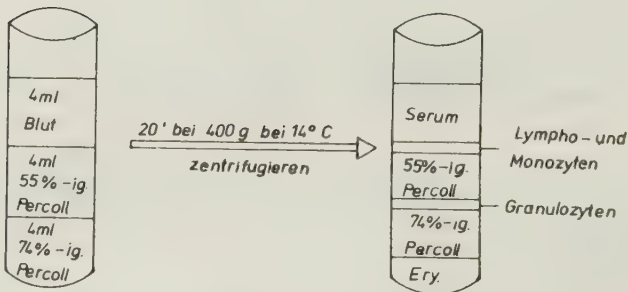


Abb. 1: Schematische Darstellung der Verteilung der zellulären Bestandteile des Blutes nach Zentrifugation

Die Granulozytenringe hob man mit einer spitzen Ansaugpipette ab und wusch die Suspension mit 0,9%iger NaCl-Lösung 10' bei 300 g und 14 ° C. Auf einen hypotonen Schock mit Aqua dest. zur Hämolyse der Erythrozyten verzichtete man, um nicht eine Schwächung der Granulozyten bei der Phagozytose zu riskieren.

Nach erneutem Waschen der Granulozyten mit physiologischer Kochsalzlösung (10', 100 g, 14 ° C), wurde das Sediment in 1 ml Hanks-Lösung resuspendiert.

Die Zählung der Granulozyten erfolgte in einer Neubauer-Zählkammer. Die Granulozytensuspension wurde auf einen Wert von 10^7 Zellen pro ml Hanks-Lösung eingestellt, wobei der Gehalt an neutrophilen Granulozyten ca. 95 % war.

Die Vitalitätsprüfung mit Trypanblau der zumeist polymorphkernigen Neutrophilen (PMN) ergab ca. 95 % lebende Zellen. Für sämtliche Schritte zur Herstellung der Leukozyten wurden Kunststoffröhrchen verwendet, um ein Anlagern der Granulozyten an die Röhrchenwand zu verhindern. Außerdem mußte man die Zellen nach jedem Zentrifugievorgang gründlich aufschütteln, da sich die Leukozyten sonst verklumpt hätten. Die oben beschriebene Herstellung der PMN erfolgte nach einer Methode von Strasser (persönl. Mitteilung, 1984).

2.4. Herstellung der Antibiotikallösungen

Für die Versuche wurde Ceftizoxim in Pulverform der Fa. Boehringer, Mannheim D, mit einem Arbeitsstandard von 884 µg/mg herangezogen. Auf einer Analysenwaage der Fa. Sartorius, Göttingen, D, wurde diejenige Menge abgewogen, die nach Auflösung in 1 ml Hanks-Medium in demselben eine Antibiotikumkonzentration vom 40 000fachen

der MHK ergab. In einer absteigenden Verdünnungsreihe stellte man die benötigten Konzentrationen an Antibiotikum her. Die Lösungen wurden auf mehrere Röhrchen verteilt und bei -80°C eingefroren. Die Ceftizoxim-Lösungen mit der jeweils benötigten Konzentration taute man am Versuchstag wieder auf.

2.5. Exposition der Bakteriensuspensionen gegenüber Antibiotikallösung und Granulozytensuspension

Die Exposition der Bakterien gegenüber den Antibiotikallösungen und den neutrophilen Granulozyten erfolgte im großen und ganzen nach einer von Thongthai und Sawyer (1973) beschriebenen Methode mit Modifikationen.

0,8 ml der photometrisch justierten Gonokokkensuspension wurden in verschließbare, sterile Kunststoffröhrchen einpipettiert. Dazu gab man je 0,1 ml der aufgetauten Antibiotikumlösung, wobei die neuerliche 1 : 10 Verdünnung bereits bei der Herstellung der Lösungen berücksichtigt worden war. Parallel zu diesen Ansätzen wurden in Kontrollröhrchen nur 0,8 ml Gonokokkensuspension und 0,1 ml Hanks-Lösung ohne Antibiotikumsatz einpipettiert. Die anschließende Inkubation aller Röhrchen erfolgte in einem Schüttelbad (Köttermann, Hänigsen, D) bei 37°C für 30', ähnlich wie bei Melby und Midtvedt (1980) beschrieben.

Um einer Veränderung des pH-Wertes in der Suspension vorzubeugen, wurden im Anschluß an die Einwirkung des Antibiotikums auf die Gonokokken nochmals 0,9 ml Hanks-Lösung als Puffer zugegeben, sowie 0,1 ml Antibiotikumlösung der betreffenden Konzentration zur Aufrechterhaltung des gewünschten Vielfaches der MHK.

Die Kontrollröhrchen wurden nur mit 1 ml Hanks-Pufferlösung bedacht.

Die Exposition gegenüber den Phagozyten erfolgte sodann durch die Zugabe von 0,1 ml der Granulozytensuspension, was eine endgültige PMN-Zahl von 5×10^5 / ml ergab. Das Verhältnis von Gonokokken zu Granulozyten betrug ca. 5 - 20 : 1.

Die Ansätze blieben für weitere 15' in dem Schüttelbad bei 37° C. Diese Zeit für die Dauer der Phagozytose hatte sich in eigenen Vorversuchen als die günstigste Reaktionsdauer herausgestellt. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Midthvedt und Melby (1978) in ihrer Veröffentlichung.

Sofort nach der Inkubation zentrifugierte man die Röhrchen bei Raumtemperatur und 160 g für 3', um nur die Zellen zu sedimentieren, den Großteil der nicht phagozytierten Gonokokken jedoch im Überstand zu belassen. Die so erhaltenen Zellsedimente wurden mit einer Pipette auf entfettete Objektträger gebracht und mit einer Platinöse ausgestrichen.

Nach Trockenfixierung der Präparate färbte man diese mit Methylenblau nach Löffler (Merck, Darmstadt, D) für eine Minute und spülte den überschüssigen Farbstoff mit Wasser ab. Anschließend zog man nach erfolgter Lufttrocknung alle Präparate einmal kurz durch die Bunsenbrennerflamme.

Auf die oben beschriebene Weise wurde jeder Versuchsansatz je Antibiotikumkonzentration und je Bakterienstamm 3 x durchgeführt, während der Kontrollansatz insgesamt 12 x dazu parallel lief.

2.6. Lichtoptische Auswertung

Die lichtoptische Auswertung erfolgte mit einem Leitz-Orthomat-Photomikroskop (Leitz, Wetzlar, D). Die Anfertigung der Schwarz-Weiß-Aufnahmen der Präparate wurde ebenfalls mit diesem Gerät durchgeführt.

Man zählte je Versuchsansatz 100 neutrophile Granulozyten aus, wobei eine Einteilung in vier Gruppen durchgeführt wurde.

1. Granulozyten, die keine Gonokokken enthielten,
2. Granulozyten, die 1 - 5 Gonokokken enthielten,
3. Granulozyten, die 6 - 10 Gonokokken enthielten,
4. Granulozyten, die mehr als 10 Gonokokken enthielten.

2.7. Elektronenmikroskopische Beurteilung

Die experimentellen Bedingungen für die Exposition der Gonokokken gegenüber Antibiotikum und neutrophilen Granulozyten waren ebenso wie oben beschrieben. Jedoch war die absolute Zahl der Bakterien und Leukozyten viel höher, um eine ausreichend große Menge für eine elektronenmikroskopische Präparatanfertigung zu gewährleisten, wobei das Verhältnis von 5 - 20 Bakterien pro 1 neutrophilen Granulozyten aber konstant gehalten wurde. Nach erfolgter Inkubation wurde 3' bei 400 g zentrifugiert. Das Sediment wurde 1 x in Hanks-Medium gewaschen, wiederum zentrifugiert und anschließend in Glutaraldehyd resuspendiert und 10' fixiert. Die Suspension wurde daraufhin ein letztes mal zentrifugiert, der Überstand verworfen, und das Sediment in Polyacryl eingebettet.

Das weitere Vorgehen bis hin zu den elektronenmikro-

skopischen Abbildungen erfolgte auf dieselbe Art und Weise wie in einer früheren Arbeit von Korting und Weber (1985) beschrieben.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse des Kontrollansatzes

Bei den Kontrollansätzen ohne Antibiotikazusatz ergab sich, daß die meisten neutrophilen Granulozyten 1 - 5 Gonokokken enthielten (Abb. 2, 3, 4, 5).

Dies zeigte sich durchwegs bei allen zwölf Versuchen, je Stamm sechs, die immer parallel zu den Experimenten mit Antibiotika durchgeführt wurden. Aufgrund der relativ geringen Standardabweichung und der guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bei den Kontrollansätzen konnte man gewiß sein, daß auch die Ergebnisse der Versuche mit Antibiotikazusatz, die an aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt wurden, untereinander gleich aussagekräftig waren.

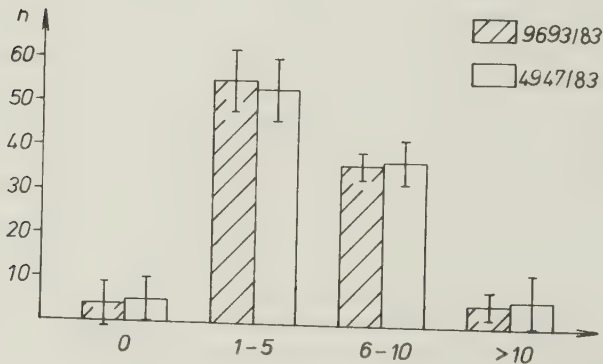


Abb. 2: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Abwesenheit von Antibiotika

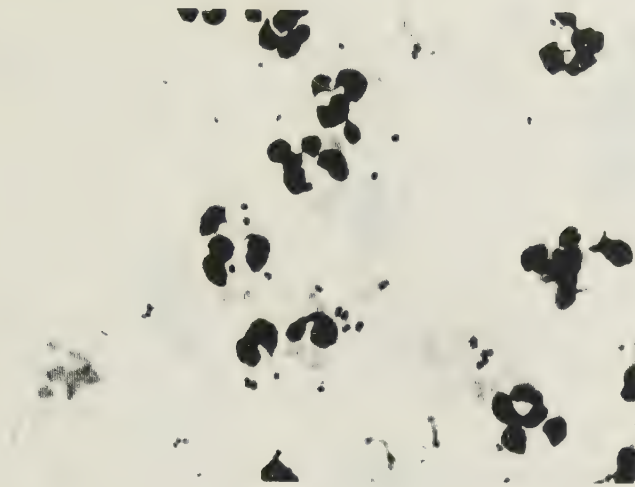


Abb. 3: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in
Abwesenheit von Antibiotika (Stamm 9693/83).
Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

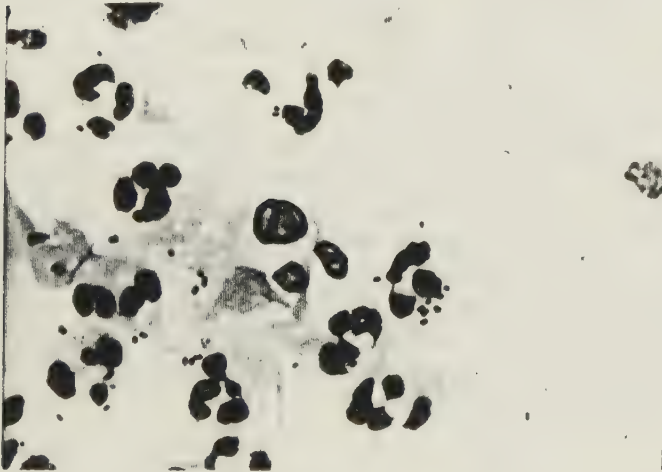


Abb. 4: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in
Abwesenheit von Antibiotika (Stamm 4947/83).
Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

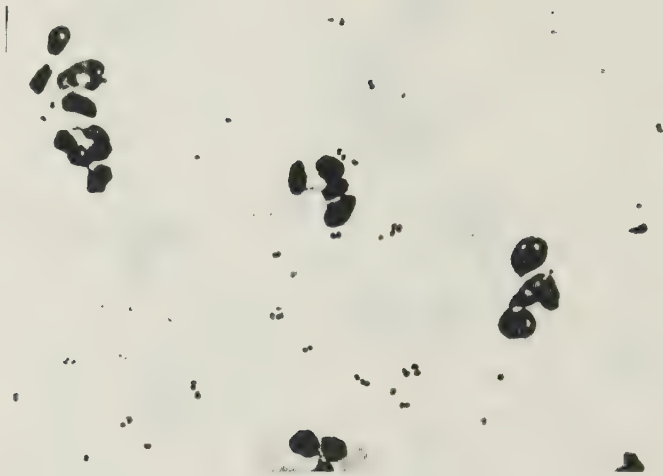


Abb. 5: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Abwesenheit von Antibiotika (im Zentrum typischer PMN mit fünf Diplokokken im Zellplasma).
Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

Nach der Säule mit 1 - 5 Gonokokken war die nächsthöchste die mit 6 - 10 Gonokokken pro Granulozyt, während die beiden anderen getroffenen Klassierungen nicht so sehr ins Gewicht fielen. Es konnten dabei auch keine Unterschiede in der Phagozytose der Gonokokken der zwei verschiedenen Stämme festgestellt werden.

Im einzelnen lauteten die ausgezählten Werte der zwölf Versuche wie in folgender Tabelle ausgeführt:

	ohne G.		1 - 5 G.		6 - 10 G.		10 G.	
Stamm	I	II	I	II	I	II	I	II
2	6	59	56	34	34	5	4	
3	6	57	53	35	37	5	4	
2	2	55	54	37	38	6	6	
5	7	56	57	36	34	3	2	
5	1	56	48	34	40	7	11	
8	6	49	50	38	37	5	7	
$\bar{x}$	4	5	55	53	36	37	5	6
SE	2,3	2,6	3,4	3,5	1,7	2,3	1,3	3,1

G. = Gonokokken

$\bar{x}$ = Mittelwert (gerundet)

SE = Standardabweichung

I = Stamm 9693/83

II = Stamm 4947/83

Tab. 1: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Abwesenheit von Antibiotika (Einzeldaten, Mittelwerte und Standardabweichungen)

Die Mittelwerte wurden bei der graphischen Darstellung nach oben oder unten gerundet, wodurch sich bei der Addition der Mittelwerte zum Teil von 100 abweichende Werte ergaben.

Die Berechnung der Standardabweichung erfolgte nach der Formel:

$$s = + \sqrt{\frac{(\bar{x} - x)^2}{n-1}} \quad (\text{Rick, 1977})$$

In Abb. 2 sowie in den folgenden graphischen Darstellungen wurden jeweils die zweifachen Standardabweichungen (SE) nach oben bzw. unten eingetragen.

3.2. Ergebnisse in Gegenwart von 1/4 der minimalen Hemm- konzentration von Ceftizoxim

Als Werte, die in verschiedenen Versuchen 3 x bestimmt worden waren, fanden sich bei der Auszählung unter dem Mikroskop folgende Zahlen (Tab. 2):

	ohne G.		1 - 5 G.		6 - 10 G.		10 G.	
Stamm	I	II	I	II	I	II	I	II
	4	1	23	24	54	50	19	25
	2	5	24	20	55	55	19	20
	1	3	24	27	54	53	21	18
$\bar{x}$	2	3	24	24	54	53	20	21
SE	1,5	2,0	0,6	3,5	0,6	2,5	1,2	3,6

G. = Gonokokken

$\bar{x}$ = Mittelwert (gerundet)

SE = Standardabweichung

I = Stamm 9693/83

II = Stamm 4947/83

Tab. 2: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen bei Zusatz von 1/4 x der MHK von Ceftizoxim (Einzelwerten, Mittelwerte und Standardabweichungen)

Schon bei 1/4 der MHK von Ceftizoxim für Gonokokken fand sich eine deutliche Steigerung der PMN, die 6 - 10 Gonokokken enthielten (Abb. 6).

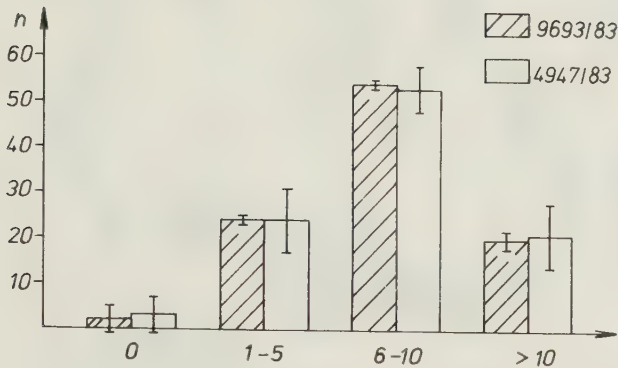


Abb. 6: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Anwesenheit von $1/4 \times$ der MHK von Cefprozid

Auch die Gruppe der PMN mit mehr als zehn Gonokokken stieg an, gleichzeitig nahm die Gruppe mit 1 - 5 Gonokokken stark ab, während die Zahl der Granulozyten, die überhaupt nicht phagozytiert hatten, praktisch unverändert blieb.

Ein typisches Bild aus der Versuchsreihe mit $1/4 \times$ der MHK zeigt Abb. 7.

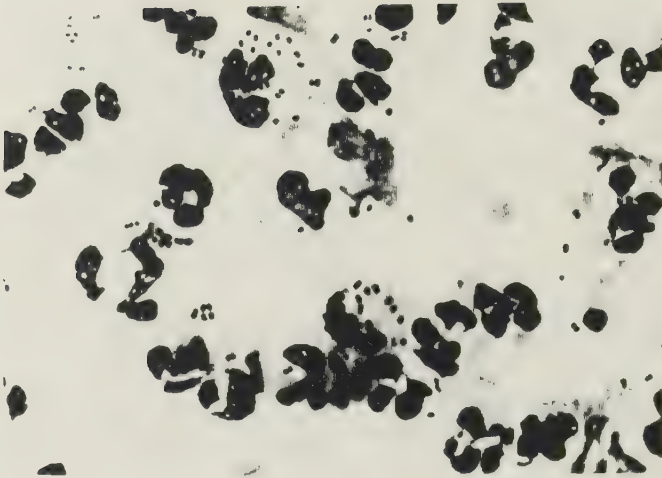


Abb. 7: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in
Gegenwart von $1/4 \times$ der MHK von Ceftizoxim.
Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

3.3. Ergebnisse in Gegenwart des 4000fachen der minimalen
Hemmkonzentration von Ceftizoxim

Die gefundenen Werte dieser Versuchsreihe gliedern sich
auf, wie in Tab. 3 niedergelegt.

	ohne G.		1 - 5 G.		6 - 10 G.		10 G.	
Stamm	I	II	I	II	I	II	I	II
3	1	17	14	35	37	54	48	
2	1	21	17	32	37	45	45	
0	1	17	20	39	38	44	42	
$\bar{x}$	2	1	18	17	35	37	45	45
SE	1,5	0	2,3	3,0	3,5	0,6	0,6	3,0

Tab. 3: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen in Gegenwart des 4000fachen der MHK von Ceftizoxim (Einzeldaten, Mittelwerte und Standardabweichungen). Bzgl. der Abkürzungen siehe Tab. 1.

Hier setzt sich die sehr deutlich zu beobachtende Rechtsverschiebung in der Gewichtigkeit der einzelnen Granulozytenfraktionen weiter fort (Abb. 8).

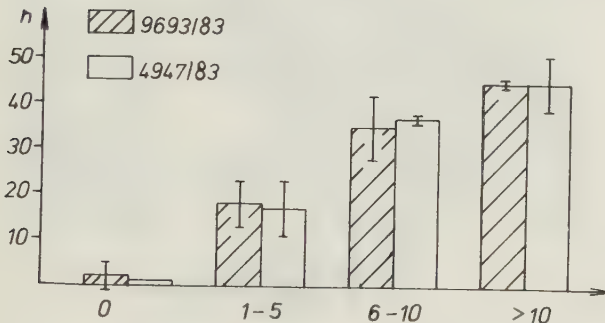


Abb. 8: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Gegenwart vom 4000fachen der MHK von Ceftizoxim

Bemerkenswert ist, daß nun die letzte Gruppe von PMN mit mehr als 10 Gonokokken pro PMN die stärkste Fraktion stellt, während die Säule der weniger Gonokokken enthaltenden Phagozyten weiter zugunsten der mehr rechts stehenden Säulen abgenommen hat. Es konnte also gezeigt werden, daß durch den Zusatz von Ceftizoxim zu den Phagozytoseansätzen keine Beeinträchtigung der Phagozytose eintrat, sondern im Gegenteil die Phagozytoserate (Gonokokken / PMN) stark gesteigert wurde. Bemerkenswert scheint noch, daß nie 100 % der PMN phagozytiert hatten. Auch konnte man keinen Unterschied zwischen den beiden verwendeten Stämmen von *Neisseria gonorrhoea* 9693/83 und 4947/83 feststellen.

Ein typisches Bild der Versuchsreihe mit dem 4000fachen der MHK zeigt Abb. 9.



Abb. 9: Phagozytose von Gonokokken durch Granulocyten in Gegenwart des 4000fachen der MHK von Ceftizoxim. Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

3.4. Elektronenmikroskopische Ergebnisse

Die ultrastrukturelle Untersuchung belegte eindeutig, daß die PMN die Gonokokken wirklich phagozytiert hatten, die sich lichtoptisch in dem Gebiet ihres Zellplasmas befanden (Abb. 10,11). Alle Gonokokken, die in den Granulozyten gefunden wurden, besaßen die typische Doppelmembran um ihren Zelleib. Dies zeigte, daß die Gonokokken in Phagolysosomen eingeschlossen waren, also eindeutig phagozytiert worden waren. Einige der Gonokokken zeigten bereits erste Zeichen der Auflösung, andere erschienen gar vollständig lysiert.

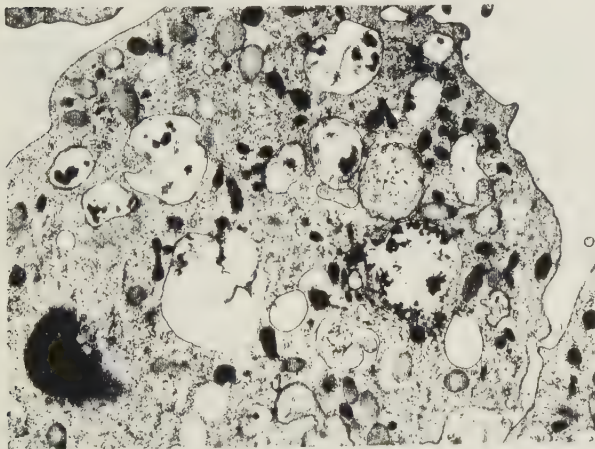


Abb. 10: Phagozytierte Gonokokken in einem Granulozyten in verschiedenen Stadien der Degeneration in Gegenwart von 1/4 der MHK von Ceftizoxim. Elektronenmikroskop, 17 000fache Vergrößerung

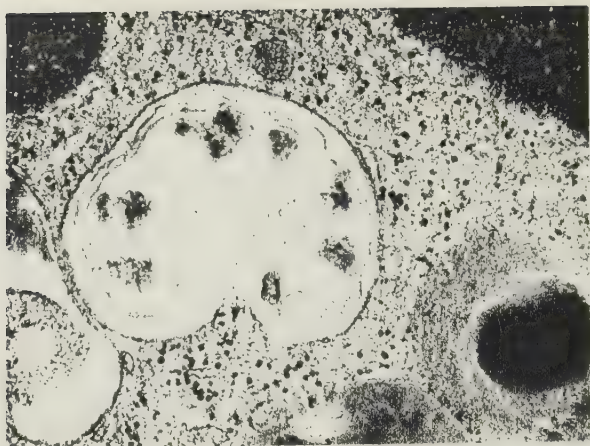


Abb. 11: Phagolysosom eines Granulozyten mit Überresten eines lysierten Gonokokken in Gegenwart einer Ceftizoximkonzentration von $1/4 \times$ der MHK. Einheitsmembran des Lysosomen wie des Gonokokkus deutlich erkennbar.
Elektronenmikroskop, 71 800fache Vergrößerung

4. Diskussion

Es konnte schon früher für einzelne Cephalosporine nachgewiesen werden, daß sie einen günstigen Einfluß auf die Phagozytose unterschiedlicher Bakterienarten durch Granulozyten haben. Dies war jedoch nicht unter allen experimentellen Bedingungen nachzuweisen (Tab. 4).

Autoren	Antibiotikum	Bakterien	Phagozytose bzw. Abtötung
Melby u. Midtvedt	Cephalotin	E. coli	0
McDonald u. a.	Cefoxitin	E. coli	+
Horne u. Tomasz	Cefoxitin Cefadroxil	Strepto- kokken	+ +
Milatovic	Cefotiam	S. aureus	0

0 = kein Einfluß

+ = Steigerung

Tab. 4: Angabe der Literatur zum Einfluß einzelner Cephalosporine auf die Phagozytose von unterschiedlichen Bakterienarten durch menschliche Phagozyten

Gleichartige in vitro-Erfahrungen oder -Untersuchungen mit *Neisseria gonorrhoea* scheint es in diesem Zusammenhang aber überhaupt noch nicht zu geben. So tauchen bisher nur einige klinische Erfahrungsberichte auf, daß Penicillin und Erythromycin die Phagozytoserate von Gonokokken durch neutrophile Granulozyten steigern können (Ovcinnikov u. a., 1974).

Milatovic und Braveny (1982) haben kürzlich in einer ausführlichen Arbeit über die Phagozytose von Bakterien bei Anwesenheit von Antibiotika herausgestellt, daß auf

diesem Gebiet keine definierten einheitlichen Versuchsbedingungen existieren, die von allen Forschenden anerkannt sind. Dies wäre eine unerläßliche Voraussetzung für später angestellte Vergleiche der unterschiedlichen Untersuchungen. Das gilt sowohl für die Durchführung der Versuche als auch für deren Auswertung. Obwohl es bisher in dieser Sparte keine Versuche mit Gonokokken gab, wurde deshalb kein völlig neues Modell konzipiert, sondern man kombinierte die bei Thongthai und Sawyer (1973) beschriebenen Methoden für die Untersuchung der Phagozytose von Gonokokken mit denen, die von Midtvedt und Melby (1978) und Melby und Midtvedt (1980) für die Untersuchung der Phagozytose von *Escherichia coli* durch menschliche PMN in Anwesenheit unterschiedlicher Antibiotika angewandt wurden.

Wie es sich in den durchgeführten Experimenten herausstellte, bewirkten bereits Konzentrationen von Ceftizoxim, die weit unter der MHK lagen, eine bemerkenswerte Steigerung der Phagozytose von Gonokokken durch PMN. Dieser Effekt scheint dosisabhängig zu verlaufen, da Konzentrationen von Ceftizoxim weit über der MHK immer noch erhebliche Steigerungen der Phagozytoserate auslösen können.

Begründet scheint dies in der zunehmenden Veränderung der Zellmembran der Gonokokken zu sein. Daß sich diese bereits bei Konzentrationen von Ceftizoxim unter der MHK finden, zeigt eine frühere Arbeit (Korting und Weber, 1985). Diese strukturellen und morphologischen Veränderungen von Bakterien unter subinhibitorischen Antibiotikakonzentrationen konnten auch früher schon für *Neisseria gonorrhoea* und andere Bakterienarten nachgewiesen werden (Lorian und Atkinson, 1976; Washington, 1979).

Vor dem Hintergrund einer hohen in vitro-Aktivität (Korting, 1984) von Ceftizoxim gegen Gonokokken verspricht

dies eine hohe Effizienz dieses Antibiotikums in angemessenen Dosen bei der Therapie der Gonorrhoe. Diese Erwartungen wurden in kürzlich veröffentlichten klinischen Untersuchungen tatsächlich bestätigt (Korting und Neubert, 1984).

In vitro-Experimente der heutigen Form können natürlich nicht allein zur Entscheidung über die klinische Wirksamkeit eines neuen Antibiotikums gegen eine bakterielle Erkrankung durch Mikroorganismen, die in vitro empfindlich sind, herangezogen werden. Doch zumindest können sie helfen, die Frage zu beantworten, ob die direkte Wirkung des Antibiotikums auf die Bakterien durch einen negativen Einfluß auf das Abwehrsystem des Patienten, das, wie oben angesprochen, ebenfalls eine herausragende Rolle bei der völligen Abtötung sämtlicher Bakterien spielt, verringert wird. Diese mögliche negative Beeinflussung wurde erst kürzlich durch Milatovic (1983) bei unterschiedlichen Antibiotika, z. B. Tetrazyklinen und Aminoglykosiden, diskutiert.

Ceftizoxim besitzt eine hohe Wirksamkeit gegen Gonokokken. Dies zeigte sich auch in Versuchen, wo verschiedene Cephalosporine in Konzentrationen in Höhe gleicher Bruchteile der MHK in Abwesenheit von Granulozyten auf Gonokokken einwirken konnten. Dabei traten bei Ceftizoxim die stärksten Veränderungen an der Zellmembran im Vergleich zu anderen Antibiotika auf (Korting und Weber, 1985; Korting und Weber, 1985 a).

Da sich die Veränderungen der Zellmembran bereits bei $1/4$ der MHK fanden, dürfte darauf die Steigerung der Phagozytoserate auch schon bei dieser Antibiotikakonzentration beruhen.

Trotz der großen Wirkung des 4000fachen der MHK von Ceftizoxim auf die Phagozytose von Gonokokken durch PMN blieben immer einige Granulozyten, die keinerlei Anzeichen von Phagozytoseverhalten zeigten. Das könnte

auf der Tatsache beruhen, daß einige der PMN ihre phagozytierende Eigenschaft unter den Einflüssen der Versuchsbedingungen verlieren.

Die lichtmikroskopische Beurteilung der neutrophilen Granulozyten kann nicht mit absoluter Sicherheit darüber entscheiden, ob wirklich eine Phagozytose des Bakteriums stattfand oder ob das Bakterium nur an der Oberfläche des PMN haftete.

In der Literatur finden sich einige Autoren, die in einem erheblichen Prozentsatz nur eine Anlagerung der Gonokokken an Phagozyten beobachteten aber keine Phagozytose. Sie schlossen daraus auf eine Phagozytoseresistenz der untersuchten Gonokokken (Densen und Mandell, 1978; Veale u. a., 1976).

Aus diesem Grunde wurde eine elektronenmikroskopische Untersuchung einiger PMN durchgeführt, um sich über dieses Problem in den angestellten Experimenten Klarheit zu verschaffen. Dabei kann festgestellt werden, daß sämtliche in der Umgebung der PMN gefundenen Gonokokken phagozytiert waren und nicht nur angelagert.

5. Zusammenfassung

Da die Gonorrhoe einer Penicillintherapie immer häufiger nicht mehr zugänglich ist, erscheint es notwendig, neue Antibiotika auf ihre Wirksamkeit bei dieser Erkrankung hin zu untersuchen. Solch ein neues Antibiotikum stellt Ceftizoxim dar, dessen Eigenschaften vor einer breiten klinischen Einführung aber erst in vitro und in vivo zu überprüfen sind.

Einen besonderen Stellenwert nimmt dabei die Untersuchung der Wirkung des Antibiotikums auf das Abwehrsystem des Menschen und hier besonders auf die bakterielle Phagozytose durch Granulozyten ein, da sie ein unentbehrlicher Faktor zur Bekämpfung von pathogenen Mikroorganismen im Körper des Menschen sind.

Dazu wurden Gonokokkensuspensionen in Ceftizoximlösungen mit der Konzentration von 1/4 und dem 4000fachen der minimalen Hemmkonzentration (MHK) gegeben und 30' später mit neutrophilen Granulozyten versetzt. Nach weiteren 15' wurden die Zellen zentrifugiert, Ausstriche angefertigt, fixiert und gefärbt. Das Verhältnis von Gonokokken zu polymorphkernigen Neutrophilen (PMN) betrug dabei 5 - 20 : 1. Parallel liefen jeweils Kontrollansätze ohne Ceftizoximzusatz.

Die Auswertung erfolgte lichtmikroskopisch durch die Auszählung von 100 neutrophilen Granulozyten, die in vier Gruppen, unterschieden nach der Zahl der phagozytierten Gonokokken, eingeteilt wurden.

Mit Hilfe des Elektronenmikroskops wurde geprüft, ob die Gonokokken, die sich lichtoptisch im Zellplasma der PMN befanden, auch wirklich innerhalb der Granulozyten lagen, also durch diese phagozytiert wurden.

Während unter den gewählten Versuchsbedingungen in den

Kontrollansätzen die PMN in ihrer Mehrzahl 1 - 5 Gonokokken aufwiesen, fanden sich bereits in Gegenwart einer Ceftrizoximkonzentration von $1/4$ der MHK deutlich mehr Gonokokken in den Phagozyten. Insbesondere nahm der Anteil von PMN mit 6 - 10 Gonokokken zu. Sie bildeten nunmehr die größte Teilmenge. In Gegenwart des 4000fachen der MHK entfielen noch viel mehr Bakterien auf einen PMN. Die relative Mehrheit von PMN wies hier mehr als zehn Gonokokken auf.

Der elektronenmikroskopischen Untersuchung zufolge lagen alle Gonokokken, die sich im Bereich des Zytoplasmas von PMN befanden, in Phagolysosomen, zum Teil zeigten sie bereits deutliche Zeichen der Schädigung bis hin zur Lyse.

An der Phagozytose und konsekutiven Abtötung der lichtoptisch im Bereich von PMN angetroffenen Gonokokken kann somit kein Zweifel bestehen.

Ceftrizoxim vermag somit in erheblichem Umfang die Aufnahme von Gonokokken in PMN zu steigern und zwar in Abhängigkeit von der eingesetzten Dosis. Hierin ist eine wichtige Teilursache der bereits nachgewiesenen hohen klinischen Wirksamkeit von Ceftrizoxim bei der Gonorrhoe zu erblicken.

6. Verzeichnis der Abbildungen

- Abb. 1: Schematische Darstellung der Verteilung der zellulären Bestandteile des Blutes nach Zentrifugation
- Abb. 2: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Abwesenheit von Antibiotika
- Abb. 3: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Abwesenheit von Antibiotika (Stamm 9693/83). Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung
- Abb. 4: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Abwesenheit von Antibiotika (Stamm 4947/83). Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung
- Abb. 5: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Abwesenheit von Antibiotika (im Zentrum typischer PMN mit fünf Diplokokken im Zellplasma). Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung
- Abb. 6: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Anwesenheit von $1/4 \times$ der MHK von Cefitizoxim
- Abb. 7: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Gegenwart von $1/4 \times$ der MHK von Cefitizoxim. Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung
- Abb. 8: Verteilung der PMN mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Gegenwart vom 4000fachen der MHK von Cefitizoxim
- Abb. 9: Phagozytose von Gonokokken durch Granulozyten in Gegenwart des 4000fachen der MHK von Cefitizoxim. Lichtmikroskop, 1800fache Vergrößerung

Abb. 10: Phagozytierte Gonokokken in einem Granulozyten in verschiedenen Stadien der Degeneration in Gegenwart von $1/4$ der MHK von Ceftizoxim.
Elektronenmikroskop, 17 000fache Vergrößerung

Abb. 11: Phagolysosom eines Granulozyten mit Überresten eines lysierten Gonokokken in Gegenwart einer Ceftizoximkonzentration von $1/4 \times$ der MHK.
Einheitsmembran des Lysosomen wie des Gonokokkus deutlich erkennbar.
Elektronenmikroskop, 71 800fache Vergrößerung

7. Verzeichnis der Tabellen

- Tab. 1: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen mit unterschiedlich vielen phagozytierten Gonokokken in Abwesenheit von Antibiotika (Einzeldaten, Mittelwerte und Standardabweichungen)
- Tab. 2: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen bei Zusatz von $1/4 \times$ der MHK von Cefprozil (Einzeldaten, Mittelwerte und Standardabweichungen)
- Tab. 3: Auflistung der ausgezählten Gruppen von polymorphkernigen Neutrophilen in Gegenwart des 4000fachen der MHK von Cefprozil (Einzeldaten, Mittelwerte und Standardabweichungen)
- Tab. 4: Angabe der Literatur zum Einfluß einzelner Cephalosporine auf die Phagozytose von unterschiedlichen Bakterienarten durch menschliche Phagozyten

8. Literaturverzeichnis

Björkstén, B.; Peterson, P.K.; Verhoeff, J.; Quie, P.G.: Limiting factors in bacterial phagocytosis by human polymorphonuclear leukocytes. Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. C 85: 345 - 349 (1977).

Burckhardt, W.: Die Klinik der Gonorrhoe des Mannes. Die hämatogenen Komplikationen der Gonorrhoe. In: Schuermann, H.; Leinbrock, A. (eds) Geschlechtskrankheiten. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg: 103 - 118 (1964).

Densen, P.; Mandell, G.L.: Gonococcal interactions with polymorphonuclear neutrophils. J. Clin. Invest. 62: 1161 - 1171 (1978).

Korting, H.C.: In vitro susceptibility of recent isolates of *Neisseria gonorrhoeae* to cephalosporins of different generations and penicillin G: A comparative evaluation. Dermatologica 168: 67 - 72 (1984).

Korting, H.C.; Abeck, D.: The susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* strains to different cephalosporins and penicillin G depends on the auxotype. Chemother., eingereicht zur Veröffentlichung (1985).

Korting, H.C.; Neubert, U.: Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Cefprozime in vitro and in vivo. Chemother. 30: 322 - 327 (1984).

Korting, H.C.; Weber, K.: Cefprozime induces morphological changes at concentrations by far lower than the minimum inhibitory concentration. Dermatologica, eingereicht zur Veröffentlichung (1985).

Korting, H.C.; Weber, K.: Morphological changes in *Neisseria gonorrhoeae* induced by various subinhibitory concentrations of cefotiam. *Chemother.*, eingereicht zur Veröffentlichung (1985 a).

Lorian, V.; Atkinson, B.: Effects of subinhibitory concentrations of antibiotics on cross walls of cocci. *Antimicrob. Agents Chemother.* 9: 1043 - 1055 (1976).

McDonald, P.J.; Wetherall, B.L.; Pruul, H.: Postantibiotic leukocyte enhancement: Increased susceptibility of bacteria pretreated with antibiotics to activity of leukocytes. *Rev. Infect. Dis.* 3: 38 - 44 (1981).

Melby, K.; Midtvedt, T.: Effects of some antibacterial agents on the phagocytosis of P-labelled *Escherichia coli* by human polymorphonuclear cells. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B* 88: 103 - 106 (1980).

Midtvedt, T.; Melby, K.: Phagocytosis of P-labelled *Escherichia coli* by human polymorphonuclear cells (PMN). *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B* 86: 193 - 199 (1978).

Milatovic, D.: Antibiotics and phagocytosis. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2: 414 - 425 (1983).

Milatovic, D.; Braveny, I.: Wechselwirkungen zwischen Antibiotika und Phagozytose. *Dtsch. med. Wschr.* 107: 1975 - 1979 (1982).

Ovcinnikov, N.M.; Delektorskiy, V.V.; Afanas'ev, B.A.: Electron microscopy of gonococci in the urethral secretions of patients with gonorrhoea treated with penicillin and erythromycin. *Brit. J. Vener. Dis.* 50: 179 - 194 (1974).

Ovcinnikov, N.M.; Delektorskiij, V.V.: Phagocytosis in the urethral discharge from patients with gonorrhoea. In: Skinner, F.A.; Walker, P.D.; Smith, H. (eds): Gonorrhoea-Epidemiology and Pathogenesis. Academic Press, London, New York, San Francisco: 157 - 183 (1977).

Rick, W.: Statistische Qualitätskontrolle (Präzisionskontrolle). In: Rick, W. (ed): Klinische Chemie und Mikroskopie. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 382 - 384 (1977).

Thongthai, C.; Sawyer, W.D.: Studies on the virulence of *Neisseria gonorrhoeae*: I. Relation of colonial morphology and resistance to phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes. *Infect. Immun.* 7: 373 - 379 (1973).

Veale, D.R.; Finch, H.; Smith, H.: Penetration of penicillin into human phagocytes containing *Neisseria gonorrhoeae*: intracellular survival and growth at optimum concentrations of antibiotic. *J. Gen. Microbiol.* 95: 353 - 363 (1976).

Voet, G.B. van der; Mattie, H.; Furth, R. van: Quantitative determination of the effect of granulocytes on the course of experimental infections during antibiotic treatment. *Infection* 12: 5 - 9 (1984).

Washington II, J.A.: The effects and significance of subminimal inhibitory concentrations and antibiotics. *Rev. Infect. Dis.* 1: 781 - 786 (1979).

Am Schluß dieser Arbeit sei es mir gestattet,
Herrn Prof.Dr.med.Dr.h.C. O. Braun-Falco für die
Überlassung des Themas und Herrn Dr.med. H.C. Korting
für die freundliche Beratung und Betreuung bei der
Durchführung meinen herzlichen Dank auszusprechen.

LEBENS LAUF

05.06.1960: Geburt als erstes Kind der Ehegatten Christoph
und Lieselotte Kreller, geborene Schäfer, in
Neuschwettingen

Sept. 1966: Einschulung in die Volksschule Neuschwettingen

Sept. 1967: Übertritt in die Grundschule Weichering

Sept. 1970: Übertritt in das Christoph-Scheiner-Gymnasium
zu Ingolstadt

27.06.1979: Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife am
Christoph-Scheiner-Gymnasium zu Ingolstadt

01.07.1979

bis

30.09.1980: Ableistung des Grundwehrdienstes

Nov. 1980: Beginn des Studiums der Zahnheilkunde an der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

15.01.1986: Bestehen des Staatsexamens der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

20.01.1986: Erteilung der Approbation als Zahnarzt durch das
Bayerische Staatsministerium des Innern

